

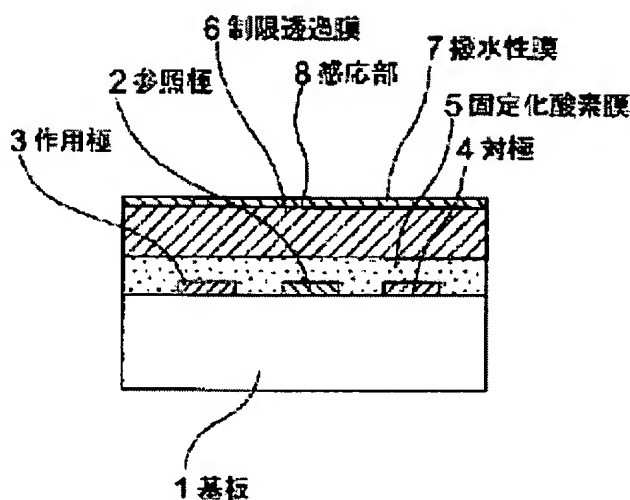
PLAINER TYPE CHEMICAL SENSOR ELEMENT, AND MANUFACTURE THEREOF

Patent number: JP2000146892
Publication date: 2000-05-26
Inventor: SAITO SOICHI; SAITO ATSUSHI
Applicant: NIPPON ELECTRIC CO
Classification:
- international: **G01N27/327; G01N27/414; G01N27/327; G01N27/403;**
(IPC1-7): G01N27/327; G01N27/414
- european:
Application number: JP19980320579 19981111
Priority number(s): JP19980320579 19981111

Report a data error here

Abstract of JP2000146892

PROBLEM TO BE SOLVED: To reduce deposit of a fouling substance on the outermost layer contacting with a test liquid upto a very low level, to stabilize thereby sensitivity even when used for a long period or repeatedly used, and to allow highly precise measurement. **SOLUTION:** This sensor element has an electrode system with at least a working electrode 3 and a counter electrode 4 formed on an insulating substrate 1, and an immobilized enzyme membrane 5 provide on the electrode system. A permeability-restricting film 6 for restricting intrusion of a substrate, and a porous water repellent film 7 are laminated on the enzyme membrane 5 in order. Alternatively, the permeability-restricting film 6 and the porous water-repellant film 7 are laminated on the enzyme membrane 5 in order, in this chemical sensor element having an ion sensing type semiconductor electric field effect type transistor provided on the substrate 1 and the enzyme membrane 5 provided on the transistor.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号
特開2000-146892
(P2000-146892A)

(43) 公開日 平成12年5月26日 (2000.5.26)

| (51) Int.Cl. ⁷ | 識別記号 | F I | テマコード (参考) |
|---------------------------|------|---------------|------------|
| G 0 1 N 27/327 | | G 0 1 N 27/30 | 3 5 3 B |
| 27/414 | | | 3 0 1 V |

審査請求 有 請求項の数 8 O L (全 6 頁)

(21) 出願番号 特願平10-320579
(22) 出願日 平成10年11月11日 (1998. 11. 11)

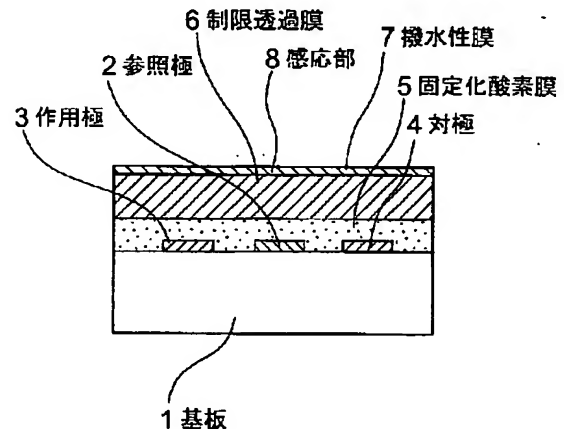
(71) 出願人 000004237
日本電気株式会社
東京都港区芝五丁目7番1号
(72) 発明者 齋藤 総一
東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社社内
(72) 発明者 齋藤 敦
東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社社内
(74) 代理人 100096231
弁理士 稲垣 清

(54) 【発明の名称】 プレーナ型化学センサ素子とその製造方法

(57) 【要約】

【課題】 被検液と接触する最外層への汚染物質の付着が極めて少なく、したがって長期間の使用あるいは反復使用においても感度が安定しており、常に高精度な測定を行うことが可能なプレーナ型化学センサ素子を提供する。

【解決手段】 絶縁性基板1上に少なくとも作用極3及び対極4が形成されてなる電極系と、この電極系上に設けられた固定化酵素膜5とを有する化学センサ素子において、固定化酵素膜上に、基質の侵入を制限する制限透過膜6と、多孔性の撥水性膜7とを順次積層する。あるいは、絶縁性基板上に設けられたイオン感応型半導体電界効果型トランジスタと、このトランジスタ上に設けられた固定化酵素膜とを有する化学センサ素子において、固定化酵素膜上に、基質の侵入を制限する制限透過膜と、多孔性の撥水性膜とを順次積層する。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 絶縁性基板上に少なくとも作用極及び対極が形成されてなる電極系と、該電極系上に設けられた固定化酵素膜とを有する化学センサ素子において、前記固定化酵素膜上に、基質の侵入を制限する制限透過膜と、多孔性の撥水性膜とが順次積層されていることを特徴とするプレーナ型化学センサ素子。

【請求項2】 絶縁性基板と、該絶縁性基板上に設けられたイオン感応型半導体電界効果型トランジスタと、該イオン感応型半導体電界効果型トランジスタ上に設けられた固定化酵素膜とを有する化学センサ素子において、前記固定化酵素膜上に、基質の侵入を制限する制限透過膜と、多孔性の撥水性膜とが順次積層されていることを特徴とするプレーナ型化学センサ素子。

【請求項3】 撥水性膜の厚さが0.1 μm 以下である請求項1又は2に記載のプレーナ型化学センサ素子。

【請求項4】 撥水性膜がフッ素系樹脂、ポリウレタン又はポリキシレンからなる請求項1～3のいずれか1項に記載のプレーナ型化学センサ素子。

【請求項5】 撥水性膜が、表面張力30 dyne/cm以下、水の接触角90°以上のものである請求項1～4のいずれか1項に記載のプレーナ型化学センサ素子。

【請求項6】 撥水性膜が、多数のマイクロクラックが形成されたものである請求項1～5のいずれか1項に記載のプレーナ型化学センサ素子。

【請求項7】 請求項1、3～6のいずれか1項に記載のプレーナ型化学センサ素子の製造方法であって、電極系上に設けられた固定化酵素膜上に基質の侵入を制限する制限透過膜を形成する工程と、該工程により得られた制限透過膜上に撥水性材料の溶液を塗布した後、減圧及び加熱を行って前記溶液を乾燥させることにより制限透過膜上に多孔性の撥水性膜を形成する工程とを含むことを特徴とするプレーナ型化学センサ素子の製造方法。

【請求項8】 請求項2～6のいずれか1項に記載のプレーナ型化学センサ素子の製造方法であって、電極系上に設けられた固定化酵素膜上に基質の侵入を制限する制限透過膜を形成する工程と、該工程により得られた制限透過膜上に撥水性材料の溶液を塗布した後、減圧及び加熱を行って前記溶液を乾燥させることにより制限透過膜上に多孔性の撥水性膜を形成する工程とを含むことを特徴とするプレーナ型化学センサ素子の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、溶液中に含まれる特定成分の濃度を酵素反応を利用して測定する化学センサに関し、さらに詳述すると、絶縁性基板上に形成した電極又はトランジスタの上に固定化酵素膜を設けてなるプレーナ型化学センサ素子の改良に関する。

【0002】

【従来の技術】 従来、溶液中に含まれる特定成分の濃度を酵素反応を利用して測定する化学センサとして、絶縁性基板上に形成した電極又はトランジスタの上に固定化酵素膜を設けてなるプレーナ型化学センサ素子がある。このような化学センサでは、機能性膜（固定化酵素膜）の触媒作用により溶液中の酸素と基質（測定対象物質）とを反応させ、電気的に測定可能な生成物を得て、これを定量する。この場合、通常的环境下では、溶液中の酸素濃度は温度に依存するある一定値をとる。そのため、基質の量が增大すると、酸素が不足して前記反応が制限される。したがって、電極やトランジスタ上に機能性膜を積層しただけのセンサでは、ある濃度以上の基質は定量できなくなる。

【0003】 前述した問題を解決するために用いられるのが制限透過膜である。制限透過膜は、多孔性の膜や不織布などであり、機能性膜上に積層されて機能性膜への基質の侵入量を制限する。理想的な制限透過膜は、酸素やその他気体の透過を抑制しないものであり、このような膜を用いれば、基質に対する酸素濃度を相対的に増大させることができ、そのため高濃度まで測定可能なセンサを得ることができる。例えば、制限透過膜が無い場合、グルコースセンサの測定範囲は0～60 mg/dl程度であるが、制限透過膜を用いると、これを0～3000 mg/dlあるいは0～5000 mg/dlといった高濃度領域まで拡大することができる。

【0004】 制限透過膜を用いたセンサ素子技術は、例えば特開平9-21779号公報に開示されている。図5はこのセンサ素子を示す断面模式図である。絶縁性基板1上に参照極2、作用極3及び対極4が形成されており、これらの電極上にはBSA（牛血清アルブミン）、GOD（グルコースオキシダーゼ）及びグルタルアルデヒドを架橋させてなる固定化酵素膜5が設けられている。さらに、固定化酵素膜5の上には、BSAとグルタルアルデヒドとからなる制限透過膜6が設けられている。

【0005】 図5に示したセンサ素子の動作は下記の通りである。まず、センサ素子を被検液中に浸漬するか、感応部8に被検液を滴下するなどして、センサ素子の感応部8に被検液を接触させる。このとき、センサ素子はポテンショスタットに接続され、作用極3には参照極2を基準として一定の電圧（0.6～0.8 V）が印加されている。被検液中のグルコースは、制限透過膜6によって侵入が制限され、固定化酵素膜5に到達する液中のグルコース濃度は、被検液（原液）中のグルコース濃度の数十～百分の一程度に薄められた状態となる。固定化酵素膜5では、GODの作用によりグルコースが酸化され、グルコン酸と過酸化水素が生成する。発生した酸化水素は作用極3上で酸化され、グルコース濃度に比例するファラデー電流が流れる。この電流値を測定し、グルコース濃度を定量する。

【0006】一方、被検液中には、測定しようとする目的物質以外の基質も含まれている。この中で、電極や膜の表面に付着して、出力を低下あるいは上昇させる物質を妨害物質と呼ぶ。被検液と接触するセンサ素子の最外層が化学的に不活性でないBSAや、表面の凹凸の大きいシリコン、アセチルセルロースなどであると、この最外層に汚染物質が付着しやすく、センサ素子を繰り返し使用すると出力が低下あるいは上昇してしまうため、定量の再現性が悪化するという問題があった。また、一度付着した物質は容易には除去されないで、亜硝酸などの特殊な薬品を用いてセンサ素子の最外層をしばしば洗浄しなければならなかった。このような薬品洗浄は、コストアップにつながるのみならず、洗浄廃液が環境に悪影響を与える危険性もあった。

【0007】また、他方では、前記問題を解決するために、フッ素系樹脂やポリウレタンなどの化学的に安定でかつ撥水性、撥油性に優れた材料を制限透過膜に用いることにより、センサ素子の最外層に汚染物質が付着することを防止する試みもなされている。このような技術は、例えば米国特許第5,696,314号公報に開示されている。図6はこのセンサの概念を示す断面模式図である。固定化酵素膜5上の制限透過膜7として、撥水性のフッ素系樹脂であるパーフルオロカーボンやポリテトラフルオロエチレンの粉末を同様の樹脂をバインダーとして膜状に形成したものをを用いている。その厚さは20 μ mである。

【0008】しかしながら、前記米国特許の技術において制限透過膜の材料として使用されている撥水性のフッ素系樹脂は、極めて高い撥水性を有するものであるため、前記のような厚い膜にすると水もほとんど通さなくなり、したがってこの技術によって実際にセンサとして動作するものを作製することは極めて困難であった。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、前述した事情に鑑みてなされたもので、その目的は、被検液と接触する最外層への汚染物質の付着が極めて少なく、したがって長期間の使用あるいは反復使用においても感度が安定しており、常に高精度な測定を行うことが可能なプレーナ型化学センサ素子及びその製造方法を提供することにある。

【0010】

【課題を解決するための手段】本発明は、前記目的を達成するため、下記(1)～(6)に示すプレーナ型化学センサ素子、及び(7)、(8)に示すプレーナ型化学センサ素子の製造方法を提供する。

(1) 絶縁性基板上に少なくとも作用極及び対極が形成されてなる電極系と、該電極系上に設けられた固定化酵素膜とを有する化学センサ素子において、前記固定化酵素膜上に、基質の侵入を制限する制限透過膜と、多孔性の撥水性膜とが順次積層されていることを特徴とするプ

レーナ型化学センサ素子。

(2) 絶縁性基板と、該絶縁性基板上に設けられたイオン感応型半導体電界効果型トランジスタと、該イオン感応型半導体電界効果型トランジスタ上に設けられた固定化酵素膜とを有する化学センサ素子において、前記固定化酵素膜上に、基質の侵入を制限する制限透過膜と、多孔性の撥水性膜とが順次積層されていることを特徴とするプレーナ型化学センサ素子。

(3) 撥水性膜の厚さが0.1 μ m以下である(1)又は(2)のプレーナ型化学センサ素子。

(4) 撥水性膜がフッ素系樹脂、ポリウレタン又はポリキシレンからなる(1)～(3)のプレーナ型化学センサ素子。

(5) 撥水性膜が、表面張力30dynes/cm以下、水の接触角90°以上のものである(1)～(4)のプレーナ型化学センサ素子。

(6) 撥水性膜が、多数のマイクロクラックが形成されたものである(1)～(5)のプレーナ型化学センサ素子。

(7) 前記(1)、(3)～(6)のプレーナ型化学センサ素子の製造方法であって、電極系上に設けられた固定化酵素膜上に基質の侵入を制限する制限透過膜を形成する工程と、該工程により得られた制限透過膜上に撥水性材料の溶液を塗布した後、減圧及び加熱を行って前記溶液を乾燥させることにより制限透過膜上に多孔性の撥水性膜を形成する工程とを含むことを特徴とするプレーナ型化学センサ素子の製造方法。

(8) 前記(2)～(6)のプレーナ型化学センサ素子の製造方法であって、電極系上に設けられた固定化酵素膜上に基質の侵入を制限する制限透過膜を形成する工程と、該工程により得られた制限透過膜上に撥水性材料の溶液を塗布した後、減圧及び加熱を行って前記溶液を乾燥させることにより制限透過膜上に多孔性の撥水性膜を形成する工程とを含むことを特徴とするプレーナ型化学センサ素子の製造方法。

【0011】

【発明の実施の形態】以下、図面を参照して本発明の実施形態について説明する。

(実施形態1) 図1は本発明に係る化学センサ素子の一例を示す平面図、図2は同素子の断面模式図である。本例のセンサ素子においては、絶縁性基板1上に参照極2、作用極3及び対極4が形成されており、これらの電極上には固定化酵素膜5が設けられている。さらに、固定化酵素膜5上には、基質の侵入を制限する制限透過膜6と、多孔性の撥水性膜7とが順次積層されている。

【0012】各電極の材料に限定はないが、例えば作用極3、対極4には白金やカーボンが用いられ、この場合の参照極2としては銀-塩化銀電極、金電極などが用いられる。各々の電極は、リードを介して検出回路に接続される。

【0013】固定化酵素膜5は、測定の目的に応じて適宜選定することができるが、通常は、共有結合法、架橋化法、包括法、吸着法等によって酵素を高分子膜などに固定化したものが使用される。

【0014】制限透過膜6としては、被検液中からの基質の侵入を制限できるものが使用され、例えば、ポリオルガノシロキサン（シリコン）、アセチルセルロース、アルブミンなどの多孔性膜が使用される。

【0015】撥水性膜7は、血液、尿などの被検液中に含まれる汚染物質の吸着を防止する機能を果たしている。撥水性膜7の撥水性の基準は、表面張力 30 dynes/cm 以下、水の接触角 90° 以上を目安にすることが適当である。また、撥水性膜7は、多数のマイクロクラックが形成された多孔性のものであり、基質の侵入をほとんど制限しない。マイクロクラックとは、その大きさ（幅、長さ）が数 nm 程度の亀裂である。撥水性膜7は、フッ素系樹脂、ポリウレタン又はポリキシレンにより形成することが好ましい。

【0016】なお、本発明の必須条件ではないが、各電極と固定化酵素膜との間に妨害物質（目的物質以外の基質で作用極と直接反応するもの）をブロックする選択透過膜を設ければ、測定の精度が向上する。また、センサ素子の感応部8以外の部分は、通常、絶縁膜9で覆うか筐体に入れるなどして、被検液と接触しないようにする。

【0017】本実施形態のセンサ素子をグルコースセンサとして構成する場合、各構成部分としては、例えば下記のを好適に使用することができる。

- ・基板1：厚さ $0.5\sim 1.5\text{ mm}$ のガラス基板
- ・作用極3及び対極4：白金薄膜
- ・参照極2：銀-塩化銀電極
- ・固定化酵素膜5：アルブミンとグルタルアルデヒドとを架橋させて得た膜中にグルコース酸化酵素を固定化したもの
- ・制限透過膜6：水溶性シリコンからなるもの
- ・撥水性膜7：フッ素系樹脂からなるもの

次に、本実施形態のセンサ素子の製造方法について説明する。ここでは、前記グルコースセンサの製造例を示す。図3（a）～（e）はその製造工程を示す模式図である。なお、以下の製造方法は、参照極を用いない2極法においても全く同様に適用することができる。

（a）絶縁性基板1上に参照極2、作用極3及び対極4を形成した。この場合、まずスパッタあるいは蒸着によって基板1上に厚さ $0.1\sim 1.0\text{ }\mu\text{m}$ のPt薄膜を形成し、フォトリソグラフィ法を用いて作用極3及び対極4を形成した。次に、同様にして厚さ $0.1\sim 1.0\text{ }\mu\text{m}$ のAg薄膜を形成・パターンニングして電極を形成した。この電極を 0.1 mol 塩酸中で定電流電解し、表面に厚さ $0.5\text{ }\mu\text{m}$ 程度の塩化銀を堆積させて参照極2を形成した。

（b）工程（a）で得られた電極系の上に固定化酵素膜5を積層した。この場合、牛血清アルブミン（BSA）、グルタルアルデヒド（GA）及びグルコースオキシダーゼ（GOD）の混合水溶液を電極系上にスピコートして厚さ $1\text{ }\mu\text{m}$ の固定化酵素膜5を形成した。

（c）工程（b）で得られた固定化酵素膜5の上に制限透過膜6を積層した。この場合、固定化酵素膜5上に水溶性シリコンをスピコートし、この塗膜を乾燥させて厚さ $0.5\text{ }\mu\text{m}$ の制限透過膜6を形成した。この制限透過膜6は、孔径 $0.001\sim 1\text{ }\mu\text{m}$ の孔を有する多孔性膜であった。

（d）工程（c）で得られた制限透過膜6上にフッ素系樹脂溶液をスピコートして、厚さ $0.05\text{ }\mu\text{m}$ のフッ素系樹脂層7aを形成した。水溶性シリコンからなる制限透過膜6の表面には高さ $0.01\text{ }\mu\text{m}$ 程度の凹凸があるため、フッ素系樹脂層7aの厚さを $0.1\text{ }\mu\text{m}$ 以下にすると、フッ素系樹脂層7aには無数のマイクロクラックが形成される。このため、フッ素系樹脂層7aは水及び基質をほぼ制限無く透過させる。

（e）工程（d）で得られたフッ素系樹脂層7aの乾燥を、圧力が数Paの減圧雰囲気下で $50\sim 100^\circ\text{C}$ に加熱して行った。こうすることによって、マイクロクラック10が均一に形成された撥水性膜7が得られた。

【0018】次に、前記グルコースセンサの動作について説明する。まず、センサ素子を被検液中に浸漬するか、感応部8に被検液を滴下するなどして、センサ素子の感応部8に被検液を接触させる。このとき、センサ素子はポテンショスタットに接続され、作用極3には参照極2を基準として一定の電圧（ $0.6\sim 0.8\text{ V}$ ）が印加されている。

【0019】センサ素子に被検液が接触すると、水とグルコース及びその他の基質は撥水性膜7中のマイクロクラック10を通して制限透過膜6に達する。制限透過膜6ではグルコースの侵入が抑制されるため、固定化酵素膜中5に拡散するグルコースの濃度は、被検液中の数十倍～百倍程度に薄められた状態となる。

【0020】固定化酵素膜5ではグルコースが酸化され、グルコン酸と過酸化水素が生成する。発生した過酸化水素は作用極3上で酸化され、グルコース濃度に比例するファラデー電流が流れる。この電流値を測定し、グルコース濃度を定量する。制限透過膜6が無い場合、測定範囲は $0\sim 60\text{ mg/dl}$ 程度であるが、制限透過膜6を用いることによって、測定範囲を 3000 mg/dl 、 5000 mg/dl といった高濃度の領域まで拡大することができる。

【0021】また、撥水性膜7を形成するフッ素系樹脂は化学的に安定で、かつ撥水性、撥油性に優れるため、汚染物質の付着が極めて少なく、また付着したとしても水洗によって簡単に汚染物質を除去することができる。さらに、マイクロクラックは幅、長さが数十 nm と非常

に小さいため、分子量の大きな妨害物質、汚染物質が固定化酵素膜5中に侵入することも阻止される。なお、撥水性膜をポリウレタンやポリキシレンで形成しても同様の効果が得られる。

【0022】上記のように、本実施形態のセンサ素子は、被検液と接触する最外層に化学的に撥水性膜を設けているので、汚染物質の付着がほとんどなく、付着した場合でも水洗等によって簡単に汚染物質を除去できる。また、撥水性膜が成膜時より十分な数のマイクロクラックを有しており、その大きさと数が変化しないため、長期間の使用においても、積層膜全体の透過率が変化しない。そのため、常にセンサの感度が安定しており、長期間あるいは反復使用においても、高精度な測定が可能になる。

（実施形態2）図4は本発明に係る化学センサ素子の他の例を示す断面模式図である。このセンサ素子は、電界効果型バイオセンサと呼ばれるものであり、イオン感応性電界効果型トランジスタ（ISFET）のゲート部に固定化酵素膜5が形成されている。本実施形態に示すISFETでは、絶縁性基板1上に島状の半導体層が形成され、この半導体層は、ソース領域11、ドレイン領域12及びチャネル領域13からなる。例えばn-p-n型のトランジスタを用いる場合には、ソース領域11及びドレイン領域12はn⁺型、チャネル領域13はp型である。

【0023】前記半導体層は、絶縁膜14及びイオン感応膜15によって覆われている。絶縁膜14には例えば酸化シリコン、窒化シリコンなどが用いられ、イオン感応膜15には例えば窒化シリコン、酸化タンタルなどが用いられる。ISFETでは、チャネル領域上のイオン感応膜が、通常のトランジスタにおけるゲート電極に相当する。すなわち、ソースドレイン間を流れる電流はイオン感応膜に発生する電位によって制御される。したがって、水素イオン感応膜を用いれば、pHの変化を電流値の変化として観測することができる。ISFETの一例としては、基板にサファイア、半導体層にシリコン、絶縁膜に酸化シリコン、イオン感応膜に窒化シリコンを用いる構成が挙げられる。

【0024】そして、本実施形態では、イオン感応膜上に実施形態1と同様に固定化酵素膜5、制限透過膜6及び撥水性膜7が設けられている。膜の厚さ等は実施形態1と同様である。図4の例ではこれらの膜全てがゲート部にパターン化されているが、固定化酵素膜5以外は基板全面にわたって形成されていても問題ない。

【0025】次に、本実施形態のセンサ素子の動作について説明する。まず、ソースドレイン間に一定の電圧（2V）を印加しておく。センサ素子に被検液を接触させると、実施形態1と全く同様にして過酸化水素とグル

コン酸が発生する。このため固定化酵素膜5の下面、すなわちイオン感応膜の表面のpHが変化する。したがって、グルコースの濃度をソースドレイン間に流れる電流値の変化として定量することができる。

【0026】本実施形態の場合も、実施形態1と全く同様な理由によって、汚染物質の影響を受けることなく、長期間の測定あるいは反復測定を高い精度で行うことが可能である。また、本例のようにISFETを用いた場合は、固定化酵素膜に電流が流れないため、センサ素子の寿命が著しく長くなる、妨害物質及びノイズの影響を受けにくくなる、センサ素子を小型化することができる、といった種々の利点が得られる。

【0027】

【発明の効果】以上のように、本発明のプレーナ型センサ素子は、被検液と接触する最外層に多孔性の撥水性膜を設けているので、汚染物質の付着がほとんどなく、付着した場合でも水洗等によって簡単に汚染物質を除去できる。また、撥水性膜が多孔性であるため、基質の透過を妨害しない。そのため、常にセンサの感度が安定しており、長期間あるいは反復使用においても、高精度な測定が可能になる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明に係る化学センサ素子の一例を示す平面図である。

【図2】図1に示した素子の断面模式図である。

【図3】本発明に係る化学センサ素子の製造工程の一例を示す模式図である。

【図4】本発明に係る化学センサ素子の他の例を示す断面模式図である。

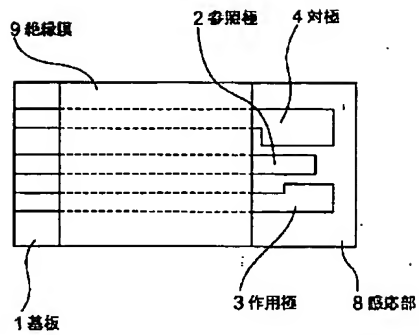
【図5】従来の化学センサ素子の一例を示す断面模式図である。

【図6】従来の化学センサ素子の一例を示す断面模式図である。

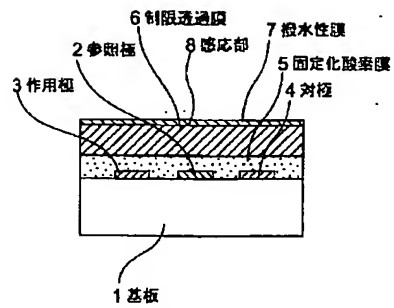
【符号の説明】

- 1 絶縁性基板
- 2 参照極
- 3 作用極
- 4 対極
- 5 固定化酵素膜
- 6 制限透過膜
- 7 撥水性膜
- 10 マイクロクラック
- 11 ソース領域
- 12 ドレイン領域
- 13 チャネル領域
- 14 絶縁膜
- 15 イオン感応膜

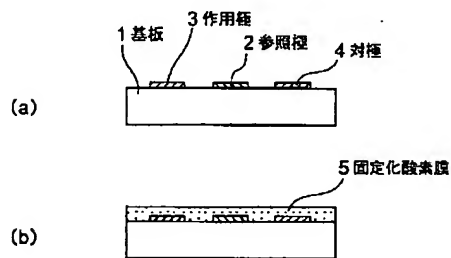
【図1】



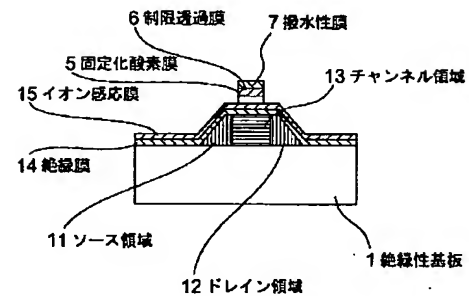
【図2】



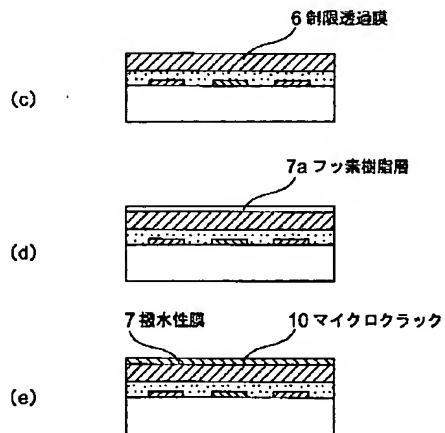
【図3】



【図4】



【図5】



【図6】

